

amaglio dell'

Istituto d' Igiene della R. Università di Siena

diretto dal Prof. A. SCLAVO

ISOLAMENTO DEL BACILLO DEL TIFO DALLE FECI

DELL' IMPIEGO DELL' ACIDO FENICO

PER RENDERE PIÙ SICURO IL METODO DI LÖFFLER

FONDATA SULL' AGGIUNTA DEL VERDE DI MALACHITE

AGLI ORDINARI MEZZI NUTRITIVI CULTURALI.

GIOVANNI SCARLINI

laureando in Medicina e Chirurgia



SIENA

TIP. EDITRICE S. BERNARDINO

1906

Istituto d' Igiene della R. Università di Siena
diretto dal Prof. A. SCLAVO

ISOLAMENTO DEL BACILLO DEL TIFO DALLE FECI

DELL' IMPIEGO DELL' ACIDO FENICO
PER RENDERE PIÙ SICURO IL METODO DI LÖFFLER
FONDATO SULL' AGGIUNTA DEL VERDE DI MALACHITE
AGLI ORDINARI MEZZI NUTRITIVI CULTURALI.

GIOVANNI SCARLINI

laureando in Medicina e Chirurgia



S I E N A

TIP. EDITRICE S. BERNARDINO

—
1906

(ESTRATTO DAL N. 3 (1906) DEGLI ATTI DELLA R. ACCADEMIA DEI FISIOCRITICI IN SIENA).

La questione dell'isolamento del bacillo del tifo, dalle feci dei tifici; da lungo tempo sorta, se, dopo la sierodiagnosi proposta dal *Vidal*, ha perduto alquanto della sua importanza dal lato della diagnosi del tifo addominale; si presenta però tuttora di un valore indiscutibilmente grande dal punto di vista della profilassi di questa malattia. E, quantunque gli sforzi di un numero, veramente straordinario, di sperimentatori, da moltissimi anni, sieno stati indirizzati alla soluzione definitiva di un tale problema, pure questa non si può dire ancora completamente raggiunta. — Per questa ragione, dietro suggerimento del mio egregio professore *Achille Sclavo*, ripresi in esame quei metodi, che in questi ultimi tempi erano stati proposti, e che sembravano più degli altri rispondere allo scopo; e cioè quello di *Drigalski* e *Conradi*, quello di *Endo*; e quello di *Löffler*.

Preparai il terreno culturale di *Drigalski-Conradi* (agar con peptone, nutrosio, lattosio, tornasole e Cristalvioletto) e quello di *Endo* (agar con fucsina, decolorato mediante solfito sodico) secondo le regole prescritte dagli autori, e, prima di adoperarli, volli controllare la mia tecnica di preparazione provandone il comportamento di fronte a campioni di tifo e di Coli esistenti in Laboratorio. Tale controllo avendo ottenuto il più favorevole risultato, passai senz'altro alla ricerca del bacillo del tifo nelle deiezioni dei tifici. — Noto subito che il materiale preso in esame proveniva sempre da ammalati in cui la sieroreazione di *Vidal* era stata riscontrata positiva nella proporzione di 1 : 100 — Furono esaminate con i due metodi le feci di 7 ammalati compiendo in complesso circa 24 esami; ebbene, nemmeno una volta riuscii ad imbattermi in una colonia di tifo! — Il difetto che riscontrai in ambedue questi metodi, fu quello di lasciare sviluppare una quantità tale di batteri da rendere la ricerca delle colonie di tifo oltremodo difficile; nonostante la differenza di colore che assumono le colonie

di coli — E confesso la verità che, se dovessi dare la preferenza ad uno di essi, forse propenderei più per quello di *Endo*, giacchè ben scarso mi risultò l'ostacolo opposto allo sviluppo di alcuni batteri dal terreno di *Drigalski* in confronto di quello di *Endo*; il quale ha invece il vantaggio di dare assai più chiara ed evidente la colorazione caratteristica alle colonie di coli — Debbo poi dire che quando questo terreno è preparato con cura e conservato all'oscuro mantiene le sue proprietà per un periodo abbastanza lungo — Quello di cui mi servii io anche dopo circa due mesi dalla preparazione non era per nulla alterato.

Veduti tali risultati così poco soddisfacenti mi rivolsi al metodo di *Löffler*; il quale consiglia l'aggiunta del Verde di Malachite ai mezzi ordinari di cultura per eliminare il Coli ed insieme alcuni altri germi esistenti di solito nelle feci — Il campione di verde da me adoperato mi fu con molta gentilezza offerto dal Prof. *Grimaldi*. — Prima però di impiegare direttamente questo metodo sulle feci volli titolare il campione di verde che avevo avuto, in modo cioè, da poterlo poi aggiungere in una concentrazione tale che m'impedisce lo sviluppo del coli senza ostacolarvi quello del tifo — Ciò feci mediante diverse prove di cultura di tifo e di coli su piastre di agar addizionato con quantità varie di verde; e trovai che la concentrazione più adatta era quella dell'1:8000 e l'1:10000. — Direttomi allora allo studio delle feci di tifosi, esaminai 7 campioni di queste ma non mi riuscì nemmeno in questo modo ad isolare il tifo — Mi potei convincere però che su questo agar-verde il coli non si era mai sviluppato e che il numero delle colonie ottenute era molto ma molto minore di quello che la stessa quantità di feci dava nell'agar di *Drigalski* e di *Endo* — Molte di queste colonie erano costituite dal *Fluorescens liquefaciens* — Coll'eliminazione del Coli un gran passo era compiuto: se si fosse riusciti ad aggiungere a questo agar al verde Malachite, senza alterare le preziose proprietà ch'esso già possedeva, quella di ostacolare lo sviluppo di quei batteri che ancora rimanevano; l'isolamento del bacillo del tifo sarebbe divenuto assai più facile — Al raggiungimento di questo fine furono dirette l'esperienze da me compiute e che in breve riassumo.

I.° Provai a lasciare all'agar aggiunto di Verde di Malachite l'acidità naturale.

II.° Provai a rendere questo agar fortemente alcalino.

III.° Tentai l'aggiunta di Ioduro di Potassio.

Ma queste nuove condizioni o mi favorivano lo sviluppo del Coli o mi ostacolavano quello del Tifo.

Mi rivolsi allora all'acido fenico che si sapeva da molto tempo avere l'azione di ostacolare fortemente lo sviluppo di molti germi in concentrazioni in cui è perfettamente innocuo pel tifo.

Con alcune esperienze fatte seminando separatamente con Tifo — Coli — e Fluorescens piastre di agar al Verde di malachite addizionato con varie quantità di acido fenico potei stabilire i seguenti fatti: Che l'acido fenico aggiunto nella quantità del $\frac{1}{2}$ ‰ all'agar al verde di malachite (1°) non era affatto dannoso al crescere rigoglioso e rapido del tifo (2°) Impediva od almeno ritardava enormemente lo sviluppo del Fluorescens — (3°) Non diminuiva per nulla l'azione ostacolante del verde allo sviluppo del Coli.

Per convincermi sempre più dell'ostacolo opposto dall'acido fenico allo sviluppo dei più svariati germi che possono trovarsi nelle feci; con emulsione di deiezioni di individuo sano feci vari strisciamenti: su agar verde semplice e su agar verde fenicato, e contemporaneamente semina una quantità approssimativamente eguale di detto materiale su piastre di agar ordinario e di agar Drigalski — Ecco i risultati dopo 16 ore — In agar ordinario e nell'agar Drigalski sviluppo di un numero enorme di colonie da coprire tutta quanta la superficie della piastra — In agar verde semplice minor numero di colonie, ma sempre assai rilevante — In agar verde fenicato invece 1 o 2 colonie per ogni piastra.

Non rimaneva quindi che provare direttamente questo agar con le feci di un tifoso. Riuscii ad avere poco tempo fa tale materiale da Poggibonsi e subito lo sottoposi ad esame. Feci con esso un'emulsione in brodo sterilizzato e da questa vari strisciamenti su agar verde semplice e su agar verde fenicato nelle solite proporzioni. Dopo 25 ore nelle piastre con agar verde semplice ebbi sviluppo di numerose colonie fra le quali dopo molte e minuziose ricerche mi riuscì a pescare 1 o 2 colonie di tifo. Invece nelle piastre con *agar-verde-fenicato* dopo 32-36 ore ebbi sviluppo di 2-3 o 4 colonie per piastra di cui quelle prese in esame (e furono quasi tutte) risultarono costituite esclusivamente da tifo. Il primo risultato non poteva essere più soddisfacente.

Pensai allora di sfruttare ancora l'azione dell'acido fenico per

dar tempo ai bacilli del tifo esistenti nelle feci di aumentare di numero prima di essere portati nelle piastre. A questo scopo feci una serie di esperienze infettando un tubo di brodo fenicato all'1 ‰ con una quantità assai grande di coli e minima di tifo, ponendolo poi in termostato, e dopo vari tempi di sviluppo ricercando il tifo con strisciamenti su agar-verde fenicato; potei così stabilire che si sviluppava sempre solamente il tifo e dopo otto ore questo si era già enormemente moltiplicato. Consiglierei quindi in pratica per l'isolamento dalle feci di fare con queste 2 emulsioni; una in brodo sterilizzata, una in brodo fenicato all'1 ‰; con la prima si farebbe lo strisciamento sull'agar subito, colla seconda invece dopo sette-otto ore di permanenza in termostato a 37.⁰

Mi sono deciso a rendere noti questi fatti perchè lasciano sperare che il metodo da me proposto possa realmente condurre ad un facile isolamento del bacillo del tifo nelle varie circostanze in cui esso si può trovare nelle feci. Non essendomi possibile fare per ora tentativi di isolamento in Siena dove quasi è cessata l'epidemia di tifo, mi auguro che altri ripeta le mie esperienze altrove allo scopo di raccogliere materiale sufficiente che permetta un definitivo giudizio sulla modificazione da me proposta al metodo di Löffler.

Marzo 1906.



